



СОЮЗ СОВЕТСКИХ  
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ  
РЕСПУБЛИК

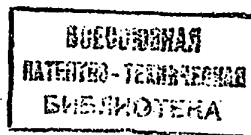
ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ  
ВЕДОМСТВО СССР  
(ГОСПАТЕНТ СССР)

# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ

(19) **SU** (11) **1809836 A3**

(51)<sup>5</sup> C 12 N 7/00, A 61 K 39/00



1

(21) 4759035/13

(22) 16.08.89

(46) 15.04.93. Бюл. № 14

(71) Всесоюзный научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства, Ленинградский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови и Институт химической физики АН СССР

(72) О.Ф.Хохлачев, Р.Н.Коровин, А.В.Беляев, В.Д.Сергеев, В.А.Бакулин, А.И.Шанская, С.М.Пучкова, Г.Я.Гдалевский, С.В.Трошечкина, Р.Г.Костяновский, Э.И.Будовский и Г.К.Кадоркина

(73) Всесоюзный научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства

(56) Bahendale W. et al. The results of field trials conducted with an inactivated vaccine against the egg drop syndrome 76 (EDS 76) - Avian Pathology, 1980, vol. 9, 1, p.p. 77-91.

2

(54) ИНАКТИВИРОВАННАЯ ВАКЦИНА ПРОТИВ СИНДРОМА СНИЖЕНИЯ ЯЙЦЕНОСКОСТИ-76 ПТИЦ

(57) Использование: биотехнология, ветеринарная вирусология, в частности изготовление вакцины против синдрома снижения яйценоскости - 76/ССЯ-76/ для профилактики указанного заболевания. Сущность изобретения: вакцина включает в себя инактивированный посредством бис- $\beta$ -этилениминоэтилоксиамида вирус ССЯ-76 штамма "В8/78" и масляный адъювант на основе соевого масла и соевого лецитина при определенном соотношении компонентов. Вакцина является не реактогенной, безвредной для привитой птицы, титр, антител при этом достигает  $8,1-9,1 \log_2$ .

Изобретение относится к ветеринарной вирусологии и может быть использовано при изготовлении вакцины против синдрома снижения яйценоскости-76 и для профилактики указанного заболевания.

Целью предполагаемого изобретения является повышение иммуногенной активности, стабильности и надежности инактивации вакцины против ССЯ-76, а также уменьшение трудозатрат при ее введении.

Поставленная цель достигается тем, что в известной вакцине и способе ее получения, включающей в себя инактивированный вирус ССЯ-76 и адъювант, в качестве вакцинного используют штамм "В8/78", в качестве адъюванта - жировую эмульсию на

основе соевого масла и соевого лецитина, а в качестве инактиватора инфекционности - бис- $\beta$ -этилениминоэтилоксиамид.

Сопоставительный анализ заявляемого решения с прототипом показывает, что заявляемая вакцина отличается от известной тем, что используют штамм вируса ССЯ-76 "В8/78", до сих пор для изготовления вакцин не использовавшийся, а не "ВС-14". При этом результаты комиссионных испытаний заявляемой вакцины в сравнении с противопоставляемой показывают ее более высокие антигенные (в 4,5-9,0 раз) и иммуногенные качества (См. Акт комиссионных испытаний... от 27.05.89 г.).

(19) **SU** (11) **1809836 A3**

Инактивацию вируса в заявляемой вакцине производят посредством бис-β-этилениминоэтилоксамида, что гарантирует полное отсутствие в вакцине остаточной инфекционности, а также невозможность репарации генома вирусной ДНК (8). Тогда как в вакцине Ноби-Вак ЭДС 76 этот процесс возможен, так как инактивацию производят посредством формалина. Кроме того, водные растворы формалина нестабильны, что затрудняет стандартизацию инактиватора (6).

Использование в заявляемой вакцине в качестве адъюванта жировой эмульсии на основе соевого масла и соевого лецитина следующего состава (в мас. %):

Соевое масло	9,0–11,0
Соевый лецитин	1,0–1,5
Сорбит	4,0–6,0
Вода	остальное

дает по сравнению с прототипом, где используется адъювант нераскрытого состава, обладающий вязкой консистенцией и температурой застывания, близкой к комнатной, преимущества более быстрого введения вакцины и точного соблюдения ее дозы.

Примеры конкретного выполнения.

Исходную вирусосодержащую жидкость получают на развивающихся утиных эмбрионах 10–12-суточного возраста, зараженных вирусом ССЯ-76 штамма "В8/78" в аллантоисную полость с последующим инкубированием при температуре  $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  в течение 96–120 ч.

Для инактивации вируса в вирусосодержащую жидкость добавляют бис-β-этилениминоэтилоксамид до конечной концентрации его в реакционной смеси 0,01 М и компоненты перемешивают при температуре  $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  в течение 20–24 ч. Затем остаточный инактиватор нейтрализуют тиосульфатом натрия, который добавляют до конечной концентрации 0,03 М и смесь выдерживают в течение 2 часов при температуре 20,0–22,0°C. Контроль инфекционности осуществляют путем трехкратных последовательных пассажей на развивающихся утиных эмбрионах 10–12-суточного возраста.

Для инаktivированного вируса определяют титр гемагглютинирующей активности в реакции гемагглютинации с 1%-ной суспензией куриных эритроцитов, после чего вирус суспендируют в физиологическом растворе с pH 7,2 до величины титра 4096 гемагглютинирующих единиц (ГАЕ)/0,2.

Суспензию инаktivированного вируса стандартной активности перемешивают в равном объеме адъюванта в течение 15 мин при 20,0–22,0°C до получения гомогенной эмульсии.

Полученную инаktivированную вакцину применяют для иммунизации против ССЯ-76 цыплят в возрасте 110–120 дней путем однократной внутримышечной инъекции в дозе 0,5 мл на птицу.

Иммунитет наступает через 14 дней и сохраняется в течение всего продуктивного периода.

Предлагаемая вакцина против синдрома снижения яйценоскости-76 птиц по сравнению с вакцинами, имеющими известный состав, обладает следующими преимуществами:

Имеет более высокую антигенную и иммуногенную активность (См. Акт комиссионных испытаний... от 27.05.89 г.);

Полная инаktivация вируса в вакцине позволяет предотвратить возможное распространение заболевания в птицеводческих странах при вакцинации;

Используемый для приготовления адъювант способствует ее высокой стабильности и иммуногенной активности;

Применение вакцины в птицеводческих странах дает возможность использовать высокопродуктивные, но чувствительные к вирусу ССЯ-76 породы, как, например, Хайсекс-браун. Яйценоскость при этом повышается на 15,2 яйца на несушку за продуктивный период, а количество снесенных бескорлупных яиц уменьшается на 5,5%.

#### Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Инаktivированная вакцина против синдрома снижения яйценоскости-76 птиц, включающая инаktivированный вирус синдрома снижения яйценоскости птиц-76 и адъювант, отличающаяся тем, что, с целью повышения иммуногенной активности и стабильности, в качестве инаktivированного вируса синдрома снижения яйценоскости птиц-76 используют инаktivированный бис-этилениминоэтилоксамидом вирус с титром до инаktivации 1024–4096 ГАЕ/0,5 мл, а в качестве адъюванта – эмульсию, включающую соевое масло, соевый лецитин, сорбит и воду при следующем соотношении компонентов, мас. %:

суспензия инаktivированного бис-этилениминоэтилоксамидом вируса синдрома снижения яйценоскости птиц-76 с титром до инаktivации 1024–4096 ГАЕ/0,5 мл	50
соевое масло	4,5–6,5
соевый лецитин	0,5–0,75
сорбит	2–3
вода	остальное.

009940277

WPI Acc No: 1994-207989/199425

XRAM Acc No: C94-095233

**Inactivated vaccine against egg drop syndr me 76 - includes virus SSYa-76 giving increased immunogenic activity, stability and reliability**

Patent Assignee: AS USSR CHEM PHYS INST (ASCH-R); LENG D HAEMATOLOGY & BLOOD TRANSF RES (LEHA-R); POULTRY RES TECHN INST (POUL-R)

Inventor: BELYAEVA A V; KHOKHLACHEV O F; KOROVIN R N

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
SU 1809836	A3	19930415	SU 4759035	A	19890816	199425 B

Priority Applications (No Type Date): SU 4759035 A 19890816

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
SU 1809836	A3	2	C12N-007/00		

Abstract (Basic): SU 1809836 A

The vaccine includes the virus SSYa-76 (strain 'V8/78') inactivated by bis-beta-ethylene-iminoethyl-oxamide (I) with a titre to inactivation of 1024.4096 GAE/0.5 ml. and an oil adjuvant based on soya oil and soya lecithin.

The adjuvant is an emulsion contg. (wt.%) 50 of a suspension of the virus inactivated by I and having the above titre, 4.5-6.5 soya oil, 0.5-0.75 soya lecithin, 2-3 sorbitol and remainder water.

USE/ADVANTAGE - In veterinary virology, in the mfr. of vaccines against egg drop syndrome. The vaccine has increased immunogenic activity, stability and reliability and is easier to administer.

In an example, the virus in the virus contg. liq. is inactivated by addn. of (I), to its final concn. in the reaction mixt. of 0.01 M, and the mixt. is stirred for 20-24 hrs. at 37.0 deg.C. The residual inactivator is neutralised with Na thiosulphate, added to a final concn. of 0.03 M, and the mixt. is held for 2 hrs. at 2.0-22.0 deg.C. To inactivate the virus the titre of the haemagglutinating activity in the haemagglutination reaction is determined with a 1% suspension of chick erythrocytes, after which the virus is suspended in pH 7.2 physiological soln. to a titre of 4096 haemagglutinating units (GAE)/0.2. The suspension of inactivated virus is transferred into an equal vol. of adjuvant over 15 mins. at 20.0-22.0 deg.C to give a homogeneous emulsion. The inactivated vaccine produced is used for immunising against SSYa-76 virus in 119-120 day chicks by a single i.m. injection at a dose of 0.5 ml. per chick. Immunity sets in after 14 days and is retained over the whole prod. period.

Dwg.0/0

Title Terms: INACTIVATE; VACCINE; EGG; DROP; SYNDROME; VIRUS; INCREASE; IMMUNOGENIC; ACTIVE; STABILISED; RELIABILITY

Derwent Class: B04; C06; D16

International Patent Class (Main): C12N-007/00

International Patent Class (Additional): A61K-039/00

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B04-F11; C04-F11; B05-A03B; C05-A03B; B07-D04A; C07-D04A; B10-C02; C10-C02; B14-S09; C14-S09; B14-S11; C14-S11; B14-S12; C14-S12; C14-U01; D05-H07; D05-H10

Chemical Fragment Codes (M1):

\*04\* M421 M430 M782 M903 P001 P210 P861 Q233 V500 V560

\*05\* M421 M430 M782 M903 P001 P210 P861 Q233 V780

Chemical Fragment Codes (M2):

\*01\* H1 H102 H182 J0 J012 J3 J372 K0 L5 L560 M210 M212 M273 M282 M312  
M322 M332 M342 M383 M392 M416 M430 M620 M782 M903 M904 P001 P210  
P861 Q233 9425-31801-M

\*02\* B415 B701 B713 B720 B815 B831 H1 H181 H721 H722 J0 J012 J2 J272 K0  
L7 L722 M210 M211 M225 M231 M262 M273 M282 M283 M312 M313 M321 M332  
M342 M343 M383 M392 M411 M430 M510 M520 M530 M540 M620 M782 M903  
M904 M910 P001 P210 P861 Q233 R01833-M

\*03\* H4 H405 H484 H8 K0 L8 L814 L821 L833 M280 M315 M321 M332 M344 M383  
M391 M416 M430 M620 M782 M903 M904 M910 P001 P210 P861 Q233 R00032-M

Derwent Registry Numbers: 0032-U; 1833-U

Specific Compound Numbers: R01833-M; R00032-M

Generic Compound Numbers: 9425-31801-M